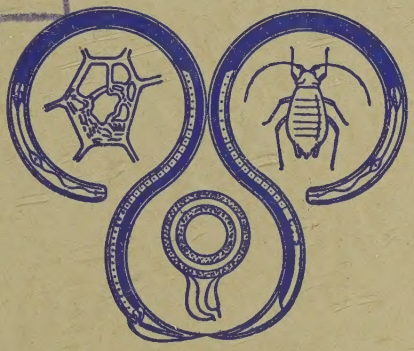
TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN

COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY
20 NOV 1961
SERIAL Eu. 86
SEPARATE

JAARGANG 67 - 1961

4e AFLEVERING



Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder redactie van

Dr. J. A. VON ARX, G. H. BOEREMA, Mej. H. L. G. DE BRUYN, Mevr. Ir. M. POST-BAKKER, Prof. Dr. J. P. H. VAN DER WANT en Dr. H. H. EVENHUIS (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Binnenhaven 12, Wageningen

BESTUUR

VAN DE NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr. P. M. L. Tammes, Wageningen, *Voorzitter*
Dr. J. C. Zadoks, Lab. v. Fytopathologie, Binnenhaven 10, Wageningen, *Secretaris*
Dr. A. P. Kole, Lab. v. Fytopathologie, Binnenhaven 10, Wageningen, *1e Penningmeester*
Postrekening no. 92 31 65 ten name van Penningmeester van de Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen
Mevr. Ir. M. Post-Bakker, Lawickse Allee 80, Wageningen, *2e Penningmeesteresse*
Ir. H. J. de Bruin, Wageningen
H. P. Dijksterhuis, Garrelsweer
Dr. J. C. s' Jacob, Wageningen
Ir. J. Walrave, Wageningen
Prof. Dr. J. P. H. van der Want, Lisse

Lidmaatschap Ned. Planteziektenkundige Vereniging

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 7,50, België f 7,50, Buitenland f 8,50. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Opzegging van het lidmaatschap moet vóór 1 december van het lopende jaar geschieden, anders is de contributie voor het volgende jaar verschuldigd.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 10,—, België f 10,—, Buitenland f 13,50. Betaling op postrekening no. 92 31 65 t.n.v. Penningmeester Ned. Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: ¼ pag. f 12,50; ½ pag. f 20,—; ¾ pag. f 30,—; 1 pag. f 55,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 12, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen N.V., Wageningen, tel. 2242.

INHOUD

HOOFDARTIKELEN Blz.

W. P. J. OVERMEER – Onderzoekingen over perebladvlo-soorten in Nederland. *With a summary: Investigations on species of Pear sucker in the Netherlands* 281
G. M. TICHELAAR – De invloed van *Gladiolus* op de kieming van sclerotiën van *Sclerotium cepivorum. With a summary: The influence of* Gladiolus *on the germination of sclerotia of* Sclerotium cepivorum 290
MARTHA BAKKER en G. SCHOLTEN – Bacterieziekten bij Amerikaanse anjers in Nederland. *With a summary: Bacterial diseases of carnations in the Netherlands* . . . 296
J. A. DE BOKX – Een vergelijking tussen verschillende toetsmethoden voor het aardappel-Y-virus. *With a summary: A comparison of different methods for testing potato virus Y* 303
H. H. SOL and J. W. SEINHORST – The transmission of rattle virus by *Trichodorus pachydermus. Met een samenvatting: De overdracht van ratelvirus door* Trichodorus pachydermus 307

KORTE MEDEDELING

W. P. DE LEEUW – Voetrot bij planten en stekken van *Pelargonium. With a summary: Basal stem rot of plants and cuttings of* Pelargonium 310

BOEKBESPREKING

G. FRÖHLIG – Gallmücken, Schädlinge unserer Kulturpflanzen (W. C. NIJVELDT) 312

T.Pl.-ziekten 67 (1961): 281–289

ONDERZOEKINGEN OVER PEREBLADVLO-SOORTEN IN NEDERLAND

With a summary: Investigations on species of Pear sucker in the Netherlands

DOOR

W. P. J. OVERMEER[1]

Laboratorium voor Toegepaste Entomologie, Universiteit van Amsterdam

INLEIDING

Van eind maart tot begin oktober 1960 werd een onderzoek ingesteld naar het voorkomen van verschillende perebladvlo-soorten in ons land, hun ontwikkeling, gedrag en populatieverloop, alsmede naar de schade die zij veroorzaken en de mogelijke bestrijding. De waarnemingen werden verricht in de boomgaarden in de omgeving van Hoorn (Blokker, Zwaagdijk en Wijdenes) en in de tuin van het Laboratorium voor Toegepaste Entomologie te Amsterdam. Het betrof de soorten: *Psylla piri* L. (= *P. pyri* L.), *Psylla piricola* Foerst. (= *P. pyricola* Foerst.) en *Psylla pirisuga* Foerst. (= *P. pyrisuga* Foerst.).

Psylla piri en *Psylla piricola* werden in de omgeving van Hoorn gevangen en verder opgekweekt in de proeftuin van het Laboratorium. *Psylla pirisuga* werd in de tuin te Amsterdam gevonden. Naast deze drie soorten was ook *Psylla melanoneura* Foerst. in deze tuin aanwezig, doch op meidoorn en niet op peer. In Zuid-Rusland komt *Psylla melanoneura* wel op peer voor en kan daar zeer schadelijk zijn. Ook in Zwitserland is deze soort op peer aangetroffen (WILLE, 1950). Samenvattende overzichten van het voorkomen en de biologie van de Europese perebladvlo-soorten zijn gegeven door LAL (1934), SCHAEFER (1949) en BONNEMAISON & MISSONNIER (1956).

P. piri komt voor in geheel Europa met uitzondering van Schotland. *P. piricola* wordt in geheel Europa gevonden en ook in Japan en Transkaukasië. Deze soort is geïmporteerd in de Nieuwe Wereld; in Canada en de U.S.A. richt ze veel schade aan. *P. pirisuga* is verspreid over Europa, Transkaukasië en Japan. *P. piri* en *P. piricola* komen in ons land algemeen voor; *P. pirisuga* is iets zeldzamer.

De bladvlooien leven in symbiose met schimmels, die gebonden zijn aan bepaalde, bij de gonaden van de bladvlo gelegen cellen, de z.g. mycetocyten. Deze mycetocyten zijn gegroepeerd in bepaalde organen, de z.g. mycetomen. De schimmel gaat via het ei op de nakomelingen over.

MORFOLOGIE

Eieren

Aanvankelijk zijn de eieren van de perebladvlooien geelwit van kleur. Na enkele dagen worden ze donkerder tot oranje. Het mycetoom schemert dan aan de aborale pool donker oranje door.

[1] Aangenomen voor publikatie 8 mei 1961.

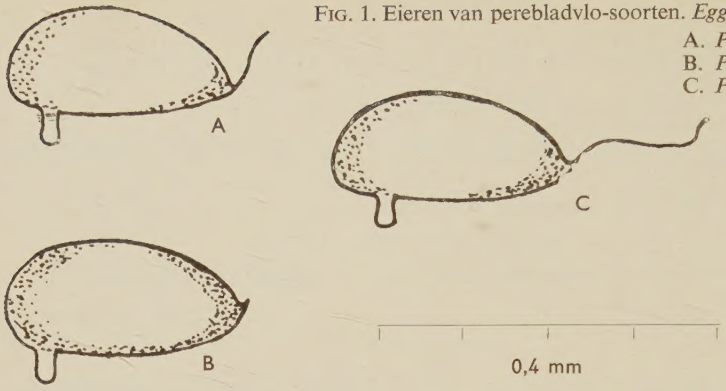


FIG. 1. Eieren van perebladvlo-soorten. *Eggs of Pear suckers.*
A. *P. piri* L.
B. *P. piricola* Foerst.
C. *P. pirisuga* Foerst.

Het ei eindigt oraal in een filament en aboraal in een eisteel. De lengte van het filament is kenmerkend voor de soort (fig. 1). De gemiddelde maten van de eieren zijn in tabel 1 weergegeven.

TABEL 1. Afmetingen der eieren.
Dimensions of the eggs.

	Lengte / *Length*	Diameter	Filament
P. piri	325 μ	140 μ	90 μ
P. piricola	305 μ	130 μ	150 μ
P. pirisuga	330 μ	155 μ	nauwelijks aanwezig *hardly apparent*

Via de eisteel staat het ei in contact met het blad en neemt het hieruit vocht op. De bladeren, waarop zich de legsels van *P. pirisuga* bevinden, krullen op, terwijl bij de legsels van andere soorten geen bladmisvorming optreedt.

Larven

De Psyllidae doorlopen vijf larvestadia. Deze zijn oranjegeel en vertonen na de eerste twee stadia, als de sklerieten donkerder van kleur worden, meer tekening. De larven der drie soorten zijn te onderscheiden aan de wijze van behaaring van het abdomen en veelal aan de lengte. De lengte van het eerste larvestadium (L 1) van de 3 soorten ligt in de grootte-orde van 0,4 mm. Bij elke vervelling nemen de dieren in grootte toe. L 5 is bij *P. piri, P. piricola* en *P. pirisuga* resp. 1,6, 1,4 en 2,0 mm.

De larven zijn aanvankelijk eirond en later meer afgeplat. De antennen van L 1 zijn tweeledig, die van L 2 en L 3 drieledig, die van L 4 vijfledig en die van L 5 zesledig. Het laatste lid draagt twee tastharen. Van L 3 af zijn de vleugelscheden duidelijk zichtbaar. In L 5 differentiëren de gonaden zich.

Imagines

Men onderscheidt bij *P. piri* en *P. piricola* zomer- en wintervormen. BONNEMAISON & MISSONNIER (1955) hebben aangetoond dat bij *P. piri* de wintervorm

onder invloed van korte dag ontstaat. Door L 5 minder dan 12 uur licht per etmaal te geven, konden wintervormen worden gekweekt. Oorspronkelijk werd de wintervorm beschreven onder de naam *P. simulans* Foerst. Ook bij *P. pirisuga* spreekt men wel van zomer- en wintervormen, maar het is gebleken dat ook hier zomer- en wintervormen dezelfde individuen zijn; de zomervormen worden namelijk tegen de herfst donkerder van kleur.

P. piri. Kort na het uitkomen zijn de imagines van de zomervorm lichtgroen van kleur. De poten zijn geelwit en de ogen met hun violette kleur zijn opvallend. Langzamerhand worden de dieren donkerder en na enige dagen zijn zij donkerrood tot bruin met gele lengtestrepen aan de rugzijde van de thorax. De vleugels krijgen geelbruine partijen tussen de donkere aderen; de poten worden donkerder.

De wintervorm is aanvankelijk ook lichtgroen, maar ze wordt weldra diep

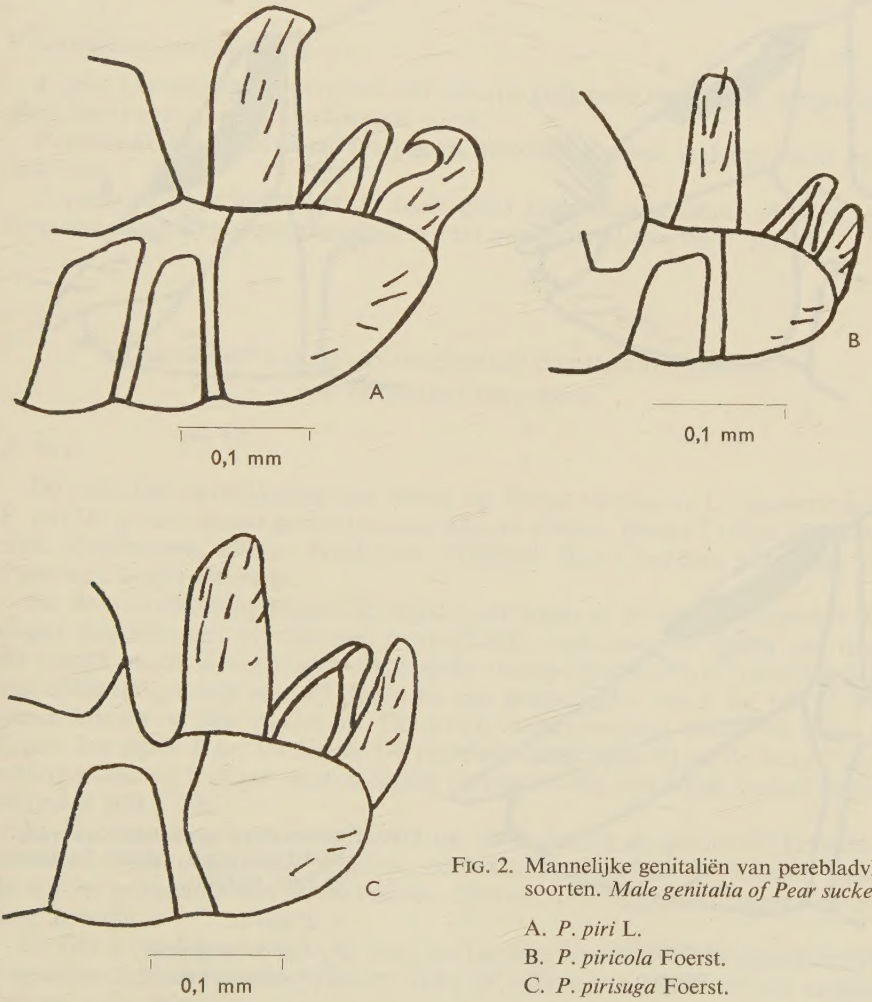


FIG. 2. Mannelijke genitaliën van perebladvlosoorten. *Male genitalia of Pear suckers.*

A. *P. piri* L.
B. *P. piricola* Foerst.
C. *P. pirisuga* Foerst.

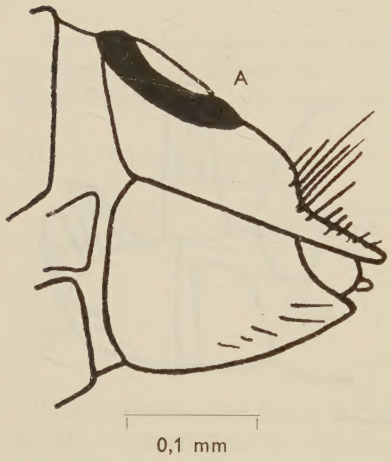
zwart. De ogen zijn eveneens violet. De vleugels hebben zeer donkere vlekken tussen de zwarte aderen.

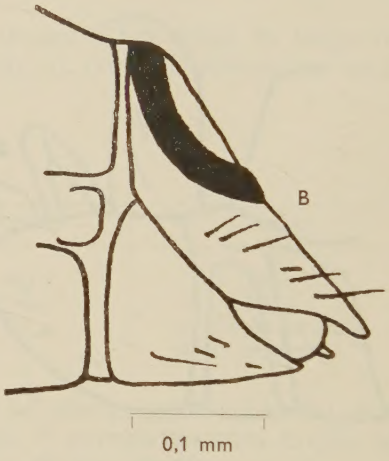
P. piricola. De zomervorm is in kleur niet te onderscheiden van de vorige soort; slechts door de geringere grootte en de anders gebouwde genitaliën verschilt zij hiervan. De wintervorm is bruinzwart.

P. pirisuga. Aanvankelijk is de zomervorm van deze soort geelgroen. Later wordt de thorax donkergeel en het achterlijf groen. De poten zijn geel en de vleugels blijven doorschijnend met oranje aderen. De wintervorm is donkerbruin met rode intersegmentale membranen, die duidelijk afsteken. De vleugels blijven doorschijnend met oranje aderen.

Afmetingen der imagines

De lichaamslengte zonder vleugels (Zvl) en de afstand van het voorhoofd





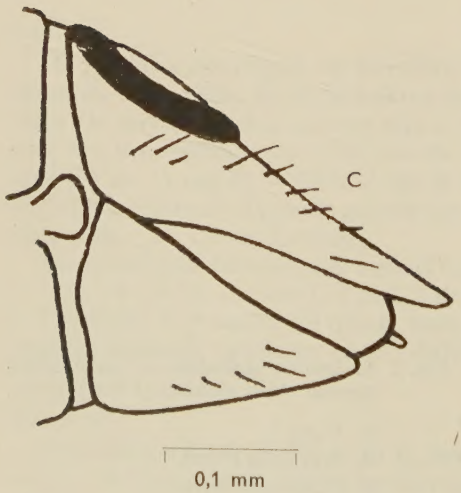


FIG. 3. Vrouwelijke genitaliën van perebladvlo-soorten. *Female genitalia of Pear suckers.*

A. *P. piri* L.
B. *P. piricola* Foerst.
C. *P. pirisuga* Foerst.

tot aan de achterrand van de vleugels in ruststand (Mvl) werden gemeten (tabel 2). Bij *P. piricola* is waargenomen dat geslachtsdimorfie optreedt. Bij *P. piri* is opvallend, dat de wintervorm van de mannetjes groter is dan die van de wijfjes, terwijl het bij de zomervorm juist andersom is.

Mannelijke genitaliën (fig. 2)

De gonopoden van *P. piri* zijn sikkelvormig, ze hebben een scherpe punt en dragen aan de buitenkant een kleine tand. De anale kegel is groot.

P. piricola heeft een kleinere anale kegel. De gonopoden zijn half zo lang als de anale kegel. Ze staan rechtop en lopen in een punt uit.

P. pirisuga. De gonopoden zijn ongeveer driekwart van de grootte van de anale kegel. De vorm is ongeveer gelijk aan die van *P. piricola.*

Vrouwelijke genitaliën (fig. 3)

P. piri. De anale plaat vertoont een scherpe knik naar binnen; de subgenitale plaat heeft een enigszins gedrongen vorm.

P. piricola. De anale plaat heeft geen inbochting, maar verloopt recht naar achteren.

P. pirisuga. Ook hier loopt de anale plaat recht naar achteren af. Het verloop van anale en subgenitale plaat is veel minder steil dan bij *P. piricola.*

Overzicht van de waargenomen ontwikkelingsduur van de perebladvlooien

P. piri

De volledige ontwikkeling kan alleen op *Pyrus communis* L. plaatsvinden. *P. piri* is op vele rassen gevonden, o.a. Beurré Hardy, Bonne Louise d'Avranches, Conference, Gieser Wildeman, Williams Bon Chrétien, Comtesse de Paris en Clapp's Favorite.

Na de overwintering leggen de wijfjes van maart af gedurende ongeveer 30 dagen dagelijks een groepje van aanvankelijk omstreeks 10 eieren per dag; dit aantal wordt later minder. Omstreeks maart-april duurt de ontwikkeling van ei tot imago ongeveer 60 dagen bij een temperatuur van 5 tot 10 °C. De eieren komen na drie weken uit. De eerste vier larvestadia duren elk 6 tot 8 dagen, het vijfde 8 tot 10 dagen. De copulatie vindt spoedig na de laatste vervelling plaats en 8 dagen daarna begint de eiafzetting. Het totale aantal eieren bedraagt 200 à 300.

In de zomer duurt het eistadium 7 tot 10 dagen en de gezamenlijke larvestadia 17 tot 24 dagen, dus de gehele ontwikkeling ongeveer een maand. Daar de wijfjes gedurende een maand eieren afzetten, overlappen de generaties elkaar spoedig.

Er zijn 3 tot 4 generaties per jaar; de herfstgeneratie zwermt aanvankelijk nog enige tijd rond en overwintert onder de schors van peren of van andere bomen in de omgeving.

TABEL 2. Afmetingen der imagines.
Dimensions of adults.

	Aantal individuen *Number of specimens*	Wintervorm *Winterform* Zvl[1]	Wintervorm *Winterform* Mvl[2]	Aantal individuen *Number of specimens*	Zomervorm *Summerform* Zvl[1]	Zomervorm *Summerform* Mvl[2]
P. piri						
♀	15	2,25–2,58 mm	2,95–3,31 mm	21	2,21–2,40 mm	2,75–2,87 mm
♂	17	2,40–2,45 mm	2,89–3,20 mm	19	2,58–2,40 mm	2,90–3,07 mm
P. piricola						
♀	10	1,81–1,89 mm	2,31–2,47 mm	7	1,80–1,90 mm	2,10–2,40 mm
♂	14	2,06–2,42 mm	2,58–2,90 mm	11	2,15–2,24 mm	2,60–2,80 mm
P. pirisuga						
♀	1	2,80 mm	3,75 mm	11	2,70–2,81 mm	3,70–3,90 mm
♂	2	2,95 mm	3,95 mm	18	2,84–2,99 mm	3,87–4,08 mm

[1] Zvl = Zonder vleugels *Without wings* [2] Mvl = Met vleugels *Winged*

P. piricola

De ontwikkelingsduur komt overeen met die van *P. piri*. Ook hier treden 3 tot 4 generaties per jaar op, waarvan de laatste overwintert onder de schors van peer; de wijfjes zetten in het vroege voorjaar eieren af op de jonge peretakjes. De gehele cyclus speelt zich hier dus op *Pyrus communis* af.

P. pirisuga

Waarschijnlijk heeft deze soort maar één generatie per jaar. Omstreeks half april worden de eerste eitjes door enkele wijfjes in grote hoeveelheden gelegd. Daarna neemt de eiproduktie weer af. De hoofdperiode van eierleggen vindt omstreeks half mei plaats. Er zijn dus twee eilegperioden kort na elkaar. In de tweede periode legt het wijfje 20 tot 25 eieren per dag; later neemt dit aantal af en binnen een maand wordt het leggen gestaakt. De totale eiproduktie bedraagt 400 tot 500.

De ontwikkelingsduur is gelijk aan die van de beide vorige soorten. Begin juni verschijnen de eerste imagines. Naarmate de maand verstrijkt verschijnen er steeds meer; begin juli zijn ze echter plotseling geheel verdwenen. Deze ervaring deed WILLE (1950) in Zwitserland ook op.

Op 25 juli vond ik een wijfje van *P. pirisuga* terug op peer, op 1 augustus een exemplaar op meidoorn, op 28 augustus een mannetje op peer.

Volgens SCHAEFER overwinteren de dieren op coniferen. WILLE vond ze op *Pinus* terug, SCHAEFER op *Juniperus*. Waarschijnlijk hebben enkele exemplaren van *P. pirisuga* de winter van 1959/60 doorgebracht op dennen (*Pinus silvestris* L.), die in de tuin te Amsterdam naast de perebomen staan. Na de overwintering keren de dieren naar de peer terug.

Ondanks herhaaldelijk en grondig onderzoek, hebben wij geen bladvlooien op coniferen aangetroffen.

ECONOMISCHE BETEKENIS

De imagines van de perebladvlooien doen weinig schade. Ze veroorzaken hoogstens kleine verkleuringen op het blad. De beschadigingen door de zuigende larven zijn van veel meer betekenis. Dit kan zelfs tot vruchtvervorming of tot vruchtafval leiden. Bovendien scheiden de larven honingdauw af, die de assimilatie van het blad bemoeilijkt en de vruchten verontreinigt. Op deze honingdauw kunnen schimmels zoals *Cladosporium herbarum* Link. en *Capnodium salicinum* Mont. roetdauw teweegbrengen.

De knoppen worden reeds op het tijdstip dat de knopschubben afvallen door de jonge larven bezet. De larven verhinderen de groei van de tak door de terminale knoppen en de zijknoppen in hun ontwikkeling te remmen. De tak loopt dan niet verder uit en vormt geen nieuwe loten en knoppen meer. Perebladeren, die sterk met perebladvlooien zijn bezet, nemen een dofgroene kleur aan, drogen uit en vallen af.

P. pirisuga legt haar eieren op zeer jonge blaadjes. De bladeren gaan op karakteristieke wijze omkrullen. Het speeksel van de larven veroorzaakt kleine, onregelmatige, zwarte vlekken op het pereblad. *P. piri* en *P. piricola* laten daarentegen de vorm van het blad onveranderd.

Daar de ontwikkeling van *P. pirisuga* op *Pyrus communis* reeds half juni geëindigd is, is, mede door het niet algemeen voorkomen, de economische betekenis van deze perebladvlo-soort veel geringer dan die van *P. piri* en *P. piricola.*

Natuurlijke vijanden

In de tuin van het Laboratorium voor Toegepaste Entomologie werd een aantal roofvijanden van perebladvlooien waargenomen. De dieren slaagden er goed in, vooral tegen het eind van het jaar, de *Psylla*-populaties te onderdrukken, zodat van tijd tot tijd nieuwe perebladvlooien moesten worden ingevoerd. In de tuin wordt geen chemische bestrijding toegepast.

Anthocorus nemorum (L.) en *Orius minutus* (L.) (Heteroptera, Anthocoridae) waren vrij algemeen. Larven en imagines van deze soort predeerden eieren en larven van *Psylla*-soorten. *Coccinella septempunctata* L. en *Adalia bipunctata* (L.) (Coleoptera, Coccinellidae) waren zeer algemeen; ook *Coccinella quinquepunctata* L. werd waargenomen. In de boomgaard te Hoorn waren roofvijanden zeldzaam ten gevolge van de chemische bestrijding. Parasieten werden nooit aangetroffen.

Chemische bestrijding

Het meeste succes bij de bestrijding van de perebladvlooien verkrijgt men met fosforesters zoals parathion en gusathion. Het resultaat met DDT is minder bevredigend, daar de eieren niet gedood worden. Winterbespuitingen zijn weinig effectief, omdat de overwinterende imagines diep wegkruipen. Niet alleen op de larven, maar ook op de eieren heeft parathion een dodende werking; de eieren ontwikkelen zich wel tot een zeker stadium, maar ze komen niet uit. Wille (1950) neemt aan, dat parathion door de dooiermembraan wordt tegengehouden. Op het moment dat het larfje uit het ei zal komen, scheurt het de dooiermembraan en komt het met het gif in aanraking. Het parathion dringt namelijk wel door de buitenste lagen van het ei naar binnen tot aan de dooiermembraan.

De wijfjes van alle drie soorten leggen hun eieren op de jongste delen van de tak, de nieuwe scheuten. Deze jonge loten groeien zeer snel uit. Zodoende bevatten de uiteinden van de takken reeds enkele dagen na de bespuiting geen gifstoffen meer. Maar juist op die plaatsen vinden de larven hun voedsel. Hier kunnen ze dus tot de volgende bespuiting rustig voortleven. Systemisch werkzame middelen zijn hier bruikbaar.

Door de intensieve bespuitingen van de perebomen in de omgeving van Hoorn is het mij aldaar niet gelukt de volledige levenscyclus van de perebladvlooien ononderbroken te volgen. Af en toe vonden ten gevolge van krachtige winden grote invasies van bladvlooien plaats in de bedrijven, die ik bij Hoorn bezocht. De vele en afwisselende bespuitingen gaven de dieren echter niet de gelegenheid een grote populatie op te bouwen. Toch is de aanwezigheid van grote aantallen perebladvlooien gedurende korte tijd, vooral als ze tegen de herfst plaats vinden, ernstig genoeg om grote schade aan het fruit te veroor-

zaken. Het gevaar van *Psylla* ligt voornamelijk hierin, dat het te veel wordt onderschat. Voorts is het moeilijk een juist tijdstip voor de bestrijding te bepalen omdat de lange periode van eierleggen ten gevolge heeft dat vooral in de nazomer alle stadia dooreen aanwezig kunnen zijn.

Summary

Three species of *Psylla* were found on pear in the Netherlands, viz. *Psylla piri, P. piricola* and *P. pirisuga.* In orchards in the province of North-Holland there are frequent invasions of both *P. piri* and *P. piricola. P. pirisuga,* on the other hand, is not a common species there, but was detected on pear trees in the experimental garden of the Laboratory at Amsterdam, in the neighbourhood of some trees of *Pinus silvestris. P. pirisuga* disappears from pear in July, and is found afterwards on several other plants, including coniferous trees.

Descriptions are given of the eggs (fig. 1), larvae and adults. *P. piri* and *P. piricola* are much alike, but differ in length of filament of the egg (table 1), in number of setae on the abdomen of the larvae, in the form of male and female genitalia (figs. 2 and 3) and by the fact that *P. piricola* is somewhat smaller than *P. piri* (table 2).

P. piri and *P. piricola* both produce three to four generations per year. The last generation develops into a winter form which differs very clearly from the summer forms. As the period during which oviposition occurs is long, the generations may overlap each other.

P. pirisuga is larger than *P. piri* and has only one generation per year as far as the observations go. The colour of the adults becomes darker as winter approaches. All species hibernate in the adult form.

Damage is rather frequent in North-Holland, the mass appearance of *P. piri* or *P. piricola* being rather irregular and unexpected. The larval stages cause leaf stunting, sometimes even fruit fall, and they also produce much honeydew. *P. pirisuga* disappears from the orchards rather early in the season and is of minor importance.

On unsprayed pear trees predators of *Psylla* spp. were found very effective, e.g. species of Anthocoridae and Coccinellidae. Parasites were not found.

Chemical control is effective with organophosphorus compounds, though timing is difficult as the generations are not sharply divided. Winter sprays are ineffective as the adults are hidden during hibernation.

Literatuur

Bonnemaison, L. & J. Missonnier, – 1955. Recherches sur la déterminisme des formes estivales ou hivernales et de la diapause chez le psylle du poirier. Ann. Épiphyt. 6: 457–528.

Bonnemaison, L. & J. Missonnier, – 1956. Le psylle du poirier. Ann. Épiphyt. 7: 263–331.

Lal, K. B., – 1934. The biology of Scottish Psyllidae. Trans. Roy. ent. Soc. 82: 363–385.

Schaefer, H., – 1949. Beiträge zur Kenntnis der Psylliden in der Schweiz. Bull. Soc. ent. Suisse 22: 1–95.

Wille, H. P., – 1950. Untersuchungen über Psylla piri L. und andere Birnblattsaugerarten in Wallis. Dissertatie, Zürich.

T. Pl.-ziekten 67 (1961): 290–295

DE INVLOED VAN *GLADIOLUS* OP DE KIEMING VAN SCLEROTIËN VAN *SCLEROTIUM CEPIVORUM*[1]

With a summary: The influence of Gladiolus *on the germination of sclerotia of* Sclerotium cepivorum

DOOR

G. M. TICHELAAR

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

De schimmel *Sclerotium cepivorum* Berk. is de veroorzaker van witrot bij *Allium*-soorten. Het is een bodemparasiet, die de plant via de ondergrondse delen binnendringt. De schimmel blijft in de grond over in de vorm van sclerotiën, die zeer lang (8 tot 10 jaar) levensvatbaar kunnen blijven. Deze sclerotiën kiemen onder gunstige omstandigheden en vormen dan een vertakt, hyalien mycelium, dat zich snel kan ontwikkelen.

Sommige onderzoekers (COTTON & OWEN, 1920; COLEY-SMITH, 1958), evenals schrijver dezes, namen de vorming van microconidiën waar (fig. 1). Zij konden deze microconidiën echter niet tot kieming brengen. Bij de verspreiding en instandhouding van de schimmel spelen deze microconidiën dan ook vermoedelijk geen rol.

Het is bekend dat bepaalde planten in hun wortels chemische stoffen bevatten die, wanneer gediffundeerd of afgescheiden in het omringende milieu, de activiteit van bepaalde bodemorganismen stimuleren of onderdrukken. Deze stoffen scheppen gunstige of ongunstige voorwaarden in de grond voor de groei van pathogene organismen, evenals voor de ontwikkeling van andere vertegenwoordigers van de microflora, waarbij de werking van de bedoelde stoffen selectief kan zijn (TIMONIN, 1941).

COLEY-SMITH (1958) toonde aan dat er van uieplanten een stimulerende invloed uitgaat op de kieming van sclerotiën van *S. cepivorum*. Indien in de directe omgeving van een gekiemd sclerotium geen waardplant aanwezig is, sterven de hyfen binnen een paar dagen af en vergaan de sclerotiën spoedig geheel. Eigen proeven met wortelexcreten van uieplanten bevestigden deze kiemstimulerende werking.

Tot dusverre is een effectieve bestrijding van witrot met chemische middelen niet mogelijk gebleken, met uitzondering van het middel calomel, dat echter te duur is voor toepassing in de praktijk. Een andere wijze van bestrijding is toepassing van vruchtwisseling, maar hiermee zijn vele jaren gemoeid vanwege de grote persistentie van de sclerotiën in de grond.

De gedachte kwam op, te zoeken naar een plant, die dezelfde kiemstimulerende werking heeft op de sclerotiën als de ui, maar die zelf niet als gastheer fungeert. In zo'n geval zouden de sclerotiën ontkiemen en uit de bodem verdwijnen.

[1] Aangenomen voor publikatie 23 juni 1961.

Laboratoriumproeven

Gladioleknollen werden gedurende enkele dagen met de wortels in water gezet. Van de aldus verkregen waterige wortelexcreten werden verdunningsreeksen gemaakt, waarbij de uitgangsconcentratie op 100 werd gesteld. In deze verdunde oplossingen werden sclerotiën, verkregen uit reincultuur, te kiemen gelegd op voorwerpglaasjes. Om te kunnen nagaan of ook de leeftijd van de sclerotiën een rol speelt bij het kiemproces, werden sclerotiën van verschillende ouderdom gebruikt. Per object werden 10 sclerotiën uitgelegd, die tevoren gedurende vijf minuten ontsmet waren in een verzadigde calciumhypochloriet-oplossing. Voor de controles werd leidingwater gebruikt. De resultaten zijn vermeld in tabel 1.

Tabel 1. Invloed van wortelexcreten van *Gladiolus* op de kieming van sclerotiën op voorwerpglaasjes.
Influence of root exudates of Gladiolus *on the germination of sclerotia on slides.*

Ouderdom sclerotiën *Age of sclerotia*	Verdunning wortelexcreet *Dilution of root exudate*	Percentage gekiemde sclerotiën na . . dagen *Percentage of germinated sclerotia after . . days*								
		2	2	3	5	6	7	8	9	14
11 weken/*weeks*	1	40	40			40				
	0,1	80	80			80				
	0,01	70	70			70				
	0,001	90	90			90				
	leidingwater *tapwater*	20	50			70				
7 weken/*weeks*	1			0	0		20	30	30	30
	0,1			0	0		0	10	10	20
	0,01			0	30		80	80	80	80
	0,001			0	40		60	60	60	60
	leidingwater *tapwater*			10	30		50	60	70	80
1 week/*week*	1			0	0		0	0	0	0
	0,1			0	0		0	0	0	10
	0,01			0	0		0	0	0	20
	0,001			0	0		0	0	0	0
	leidingwater *tapwater*			0	0		0	0	0	0

Zeer waarschijnlijk speelt de concentratie van de werkzame stof een rol bij het kiemproces, waarbij een zeer geringe concentratie kiemstimulerend werkt doch een hogere concentratie niet. Daarnaast blijkt de leeftijd van de sclerotiën van invloed te zijn op de snelheid van het kiemen in die zin, dat oude sclerotiën sneller kiemen dan jonge. Dit laatste is in overeenstemming met de bevindingen van Coley-Smith (1958).

Deze proef werd op een andere wijze herhaald, waarbij 1 ml van de verdunningsreeks vermengd werd met 9 ml wateragar. Voor deze voedingsbodems werd wateragar gebruikt omdat dit weinig of geen voedingsstoffen bevat die eventueel invloed zouden kunnen uitoefenen op de kieming. Per object werden

100 ontsmette sclerotiën van 14 weken oud te kiemen gelegd. In tabel 2 zijn de uitkomsten vermeld.

Tabel 2. Invloed van wortelexcreten van *Gladiolus* op de kieming van sclerotiën op agar.
Influence of root exudates of Gladiolus *on the germination of sclerotia on agar.*

Verdunning wortelexcreet *Dilution of root exudate*	Percentage gekiemde sclerotiën na . . dagen *Percentage of germinated sclerotia after . . days*			
	2	3	4	6
1	24	45	52	59
0,1	9	34	39	51
0,01	7	32	37	43
0,001	3	24	31	39
leidingwater *tapwater*	7	24	32	35

Ook uit tabel 2 blijkt duidelijk dat de kieming van de sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* door wortelexcreten van *Gladiolus* wordt gestimuleerd. Deze proeven zijn verscheidene keren herhaald met gelijkluidende resultaten.

In een andere proef werden gladioleknollen in een „waringblendor" fijn gemaakt. Het verkregen extract werd in een verdunningsreeks met aardappel-glucose-agar in petrischalen vermengd. Sclerotiën, die op deze voedingsbodems werden uitgelegd, vertoonden ook een versnelde kieming ten opzichte van de controles. Deze kieming verliep echter minder snel dan in de proeven waarbij gebruik gemaakt werd van wortelexcreten. Opvallend in deze proef was het beeld van de myceliumgroei. Naarmate het extract geconcentreerder was, was het mycelium korter, sterker vertakt en gedrongener van vorm, waarbij verdere groei spoedig ophield (fig. 2, 3 en 4).

Om na te gaan of *Gladiolus* als waardplant voor *S. cepivorum* kan optreden, werden stukjes gladioleknol op een voedingsbodem van aardappel-glucose-agar uitgelegd en op enige afstand daarvan mycelium van *S. cepivorum* geënt. Reeds na twee dagen was een duidelijke remmingszone aanwezig, veroorzaakt door diffusie van één of meer onbekende stoffen in de agar (fig. 5).

Misschien is deze stof dezelfde als die welke in zeer geringe concentraties de stimulerende werking vertoont op de kieming van sclerotiën. Hiermee is het duidelijk dat *Gladiolus* niet als waardplant voor *S. cepivorum* kan optreden.

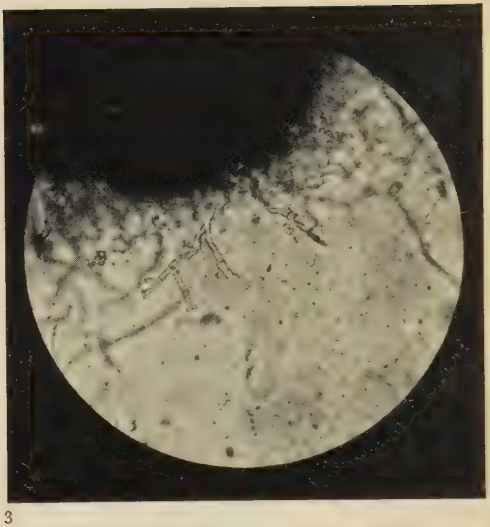
Potproeven

Om de invloed van *Gladiolus* op sclerotiën in de grond te onderzoeken, werd een aantal potproeven genomen. In potten, gevuld met gestoomde tuingrond, werden 20 sclerotiën per pot gedaan en vervolgens per pot één gladioleknol geplant. Na verloop van tijd werd de grond uit de potten opgespoeld in een aaltjesspoelapparaat van Seinhorst (1956) en onderzocht op nog aanwezige sclerotiën. De proef werd uitgevoerd met zeven potten, waarin sclerotiën en gladioleknollen en drie potten als controle, waarin uitsluitend sclerotiën aanwezig waren. In tabel 3 zijn de resultaten weergegeven.

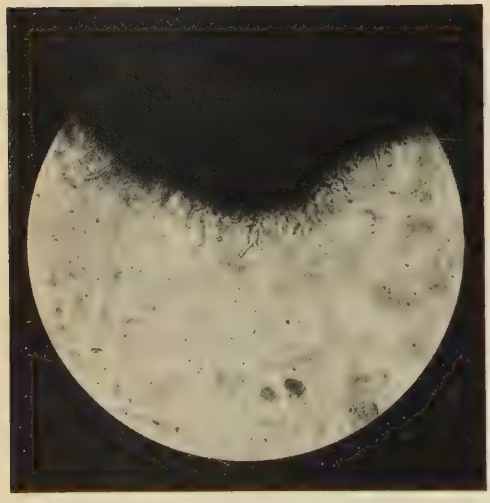
Fig. 1. Microniidiën van *S. cepivorum*. *Microconidia of* S. cepivorum.

Fig. 5. Remmingszone, veroorzaakt door *Gladiolus* op mycelium van *S. cepivorum*. *Inhibition zone caused by* Gladiolus *on mycelium of* S. cepivorum.

2



3



4

FIG. 2. Normaal kiemend sclerotium op voedingsbodem zonder extract.
Germinating sclerotium on nutrition agar without extract.

FIG. 3. Kiemend sclerotium op voedingsbodem met extract (verdunning 0,1).
Germinating sclerotium on nutrition agar with extract (dilution 0,1).

FIG. 4. Kiemend sclerotium op voedingsbodem met extract (verdunning 1).
Germinating sclerotium on nutrition agar with extract (dilution 1).

Tabel 3. Invloed van de teelt van *Gladiolus* op sclerotiën in de grond. Per pot 20 sclerotiën.
Influence of the cultivation of Gladiolus *on sclerotia in the soil. 20 sclerotia per pot.*

Pot	Aantal teruggevonden sclerotiën na . . weken *Number of recovered sclerotia after . . weeks*						
	4	8	10	12	14	15	19
1	5						
2			4				
3				4			
4					2		
5						4	
6			0				
7							8
controles *controls*		15	13	14			

Uit tabel 3 blijkt, dat in de potten met gladioleknollen belangrijk minder sclerotiën werden teruggevonden dan in de potten zonder gladioleknollen. Daar het mogelijk kan zijn dat organische stoffen in de grond een rol spelen bij de kieming en het verdwijnen van de sclerotiën uit de grond, werd bovenstaande proef herhaald met zuiver, gestoomd zand. Per pot werden 10 sclerotiën toegevoegd. De proef bestond uit negen potten met en drie potten zonder gladiolen. De aantallen teruggevonden sclerotiën zijn vermeld in tabel 4.

Ook nu bleek, dat in de potten met een gladioleknol belangrijk minder sclerotiën konden worden teruggevonden dan in de potten zonder gladioleknol.

Deze proef werd nogmaals herhaald met gestoomd zand en 50 sclerotiën per pot. Ook hier varieerden de aantallen teruggevonden sclerotiën in de potten met gladiolen van nul tot 30 % van het oorspronkelijke aantal toegevoegde sclerotiën, terwijl in de controles gemiddeld 95 % van de sclerotiën werden teruggevonden. Een deel van de teruggevonden sclerotiën uit de potten met gladiolen vertoonde een aantastingsbeeld, waarbij de schorswand een gecorro-

Tabel 4. Invloed van de teelt van *Gladiolus* op sclerotiën in gestoomd zand. Per pot 10 sclerotiën.
Influence of the cultivation of Gladiolus *on sclerotia in steamed sand. 10 sclerotia per pot.*

Pot	Aantal teruggevonden sclerotiën na ... weken *Number of recovered sclerotia after ... weeks*					
	15	16	19	21	23	24
1	0					
2		2				
3			2			
4				1		
5					2	
6						1
7		1				
8			2			
9				2		
controles *controls*			9	10	9	

deerd uiterlijk had; andere waren nog volkomen gaaf. In bovenstaande proeven zijn in totaal 6 variëteiten van *Gladiolus* gebruikt.

De invloed van de gladiool op de sclerotiën in de grond werd nog op een andere wijze onderzocht. Daarbij werd uitgegaan van besmette grond, afkomstig van zieke percelen uit Zuid-Holland. Deze grond werd in drie porties verdeeld. Op het eerste gedeelte (de controle) werden uien gezaaid; gedurende een bepaalde tijd na opkomst werd het ziekteverloop nagegaan en het aantal zieke planten geteld. Het tweede gedeelte werd eerst met gladiolen beplant. Na vier maanden werden, na verwijdering van de gladioleknollen, uien gezaaid en het aantal zieke planten bepaald. Het derde gedeelte werd tweemaal gedurende vier maanden met gladiolen beteeld, vervolgens werden uien gezaaid en de zieke planten geteld.

Indien aangenomen wordt dat een reductie van het aantal sclerotiën in de grond een vermindering van het aantal aangetaste planten zal geven, dan zal het infectieniveau na elke volgende tussenteelt met gladiolen moeten dalen. In tabel 5 zijn de resultaten van deze proef vermeld.

TABEL 5. Witrotaantasting van uien na tussenteelt met *Gladiolus*.
White rot attack of onions after cultivation of Gladiolus.

Object	Aantal uieplanten *Number of onion plants*	Totaal aantal zieke uieplanten na .. weken *Total number of diseased onion plants after .. weeks*											Percentage zieke uieplanten *Percentage of diseased onion plants*
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Geen tussenteelt *No cultivation of* Gladiolus	117	0	0	0	0	6	22	41	41	41	41	41	35
1 × tussenteelt *1 × cultivation of* Gladiolus	126	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	18	14
2 × tussenteelt *2 × cultivation of* Gladiolus	115	0	0	0	0	0	0	1	1	4	7	10	9

Uit tabel 5 blijkt, dat het percentage zieke uieplanten na twee tussenteelten van gladiool werd gereduceerd van 35 % tot 9 %. Hoewel de waarnemingen van deze proef slechts over een korte periode liepen, geven deze cijfers voldoende aanwijzing dat gladiolen ook in natuurlijke, besmette grond de aantasting door witrot kunnen verminderen.

DISCUSSIE

Juist omdat *Sclerotium cepivorum* gespecialiseerd is op *Allium*-soorten, is een bestrijding door middel van vruchtwisseling aantrekkelijk. Indien bij de vruchtwisseling gewassen verbouwd worden die de sclerotiën als zodanig met rust laten, zal pas na vele jaren enig resultaat bereikt worden, gezien de grote persistentie van sclerotiën in de grond. Plant men echter een gewas als *Gladiolus*, dat de sclerotiën op de een of andere wijze beïnvloedt zonder zelf te worden aangetast, dan zal het infectieniveau van een besmette grond waarschijnlijk veel sneller worden verlaagd. Proeven op ruimere schaal in de praktijk zullen dit moeten uitwijzen.

Samenvatting

Door het feit dat witrot, *Sclerotium cepivorum* Berk., in de grond overblijft in de vorm van sclerotiën die zeer levenskrachtig zijn, is een economische bestrijding van deze ziekte met chemische middelen nog niet mogelijk. Onderzocht werd of een „natuurlijke" bestrijding met gebruikmaking van gladiolen als tussenteelt enig perspectief biedt.

Uit laboratoriumproeven met de knollen van *Gladiolus* bleek, dat één of meer onbekende stoffen via de wortels afgescheiden worden die, in zeer geringe concentraties, de kieming van sclerotiën van *S. cepivorum* stimuleerde. In hogere concentraties bleken deze remmend te werken op de groei van het mycelium. Ook sclerotiën in de grond werden door wortelexcreten van de gladiool op de een of andere wijze beïnvloed, waardoor het aantal sclerotiën sterk verminderde. In besmette grond, afkomstig van zieke percelen, werd de aantasting van uieplanten door witrot belangrijk verminderd na een voorvrucht met gladiolen.

Daar *Gladiolus* zelf niet als waardplant van *S. cepivorum* optreedt, zou bestrijding van witrot mogelijk kunnen zijn door *Gladiolus* als tussenteelt bij de verbouw van uien in te schakelen.

Summary

Sclerotium cepivorum Berk., the cause of white rot in onions, survives in the soil in the form of sclerotia, which remain viable for many years and which are highly resistant against fungicides. Therefore economic control of the disease with chemical compounds is not yet possible.

In laboratory experiments root exudates of *Gladiolus* stimulated the germination of sclerotia. Higher concentrations of the active ingredient seemed toxic to the mycelium of *S. cepivorum* (tables 1, 2; figs. 2, 3, 4, 5).

The number of sclerotia in soil decreased more in the presence of *Gladiolus* than in controls without *Gladiolus* (tables 3, 4). In soil from infested onion aereas growing *Gladiolus* decreased the incidence of white rot in onions grown afterwards (table 5). It may therefore be possible to control white rot of onions by growing *Gladiolus* in infested fields.

Literatuur

Cotton, A. D. & M. N. Owen, – 1920. The white rot disease of onion bulbs. J. Min. Agric. 26: 1093–1099.

Coley-Smith, – 1958. The biology of the sclerotia of S. cepivorum. Thesis, University of Birmingham.

Seinhorst, J. W., – 1956. The quantitative extraction of nematodes from soil. Nematologica 1: 249–267.

Timonin, M. I., – 1941. The interaction of higher plants and soil micro-organisms. III. Effect of by-products of plant growth on activity of fungi and actinomycetes. Soil Sci. 52: 395–408.

T.Pl.-ziekten 67 (1961): 296–302

BACTERIEZIEKTEN BIJ AMERIKAANSE ANJERS IN NEDERLAND[1]

With a summary: Bacterial diseases of carnations in the Netherlands

DOOR

MARTHA BAKKER[2] en G. SCHOLTEN[3]

INLEIDING

Eerder (BAKKER & SCHOLTEN, 1955) werd bericht over het optreden van een bacterieziekte in anjers in Nederland. Toen werd de conclusie getrokken dat de bacterie, die hier sedert 1951 werd aangetroffen, identiek is met de soort *Pseudomonas caryophylli* Burk.

Voortgezet onderzoek deed twijfel rijzen aan deze conclusie. Reeds in 1955 kwam vast te staan, dat er twee verschillende soorten bacteriën als oorzaak van verwelking bij anjers kunnen optreden (SCHOLTEN, 1955). Vergelijking van de beide soorten heeft een aantal duidelijke verschillen in eigenschappen aan het licht gebracht. Gebleken is, dat *Pseudomonas caryophylli*, die in Nederland slechts een enkele maal is aangetroffen, in onze streken geen wezenlijk gevaar voor de anjerteelt oplevert. De andere bacterie, een *Erwinia*-soort, is in staat in elk stadium van de cultuur grote schade aan te richten.

DE ONTDEKKING VAN *ERWINIA*

Met bacterie-isolaties uit zieke anjerplanten werden infectieproeven verricht op nagenoeg alle anjervariëteiten die in Nederland in cultuur waren (SCHOLTEN, 1953, 1954). Hierbij kwamen geen duidelijke verschillen in gevoeligheid aan het licht. De resultaten van THOMAS (1954), volgens welke de variëteit Durango volledig resistent zou zijn tegen *Pseudomonas caryophylli*, waren aanleiding om nog een vergelijkende infectieproef uit te voeren. Toen bleek, dat de geïnfecteerde Durango-stekken na beworteld en opgepot te zijn als eerste begonnen te verwelken, lag de conclusie voor de hand, dat er belangrijke verschillen in eigenschappen bestaan tussen de Amerikaanse en de Nederlandse bacterie-isolaties.

Inmiddels was door HELLMERS (1955a) een aantasting door *Pseudomonas caryophylli* beschreven, die in 1953 grote schade had aangericht bij de variëteit Harvest Moon op een exportkwekerij bij Kopenhagen. Toen we echter tijdens het XIVe Internationaal Tuinbouwkundig Congres te Scheveningen in 1955 in de gelegenheid waren onze ervaringen uit te wisselen met die van onderzoekers uit Denemarken en Engeland, bleek ons dat ook daar een andere bacterie was gevonden die verwelking van anjers veroorzaakte.

Zowel ELLIOTT (1956) in Engeland als HELLMERS in Denemarken deter-

[1] Aangenomen voor publikatie 13 mei 1961.

[2] Mevr. M. POST-BAKKER was ten tijde van het onderzoek werkzaam bij het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.), Wageningen.

[3] I.P.O., Wageningen, gedetacheerd bij het Proefstation voor de Bloemisterij in Nederland, Aalsmeer.

mineerden deze bacterie als een *Erwinia (Pectobacterium)*-soort. Door HELLMERS (1958) werd aan deze bacterie de naam *Pectobacterium parthenii* var. *dianthicola* gegeven. Bij vergelijking van de eigenschappen van de door ons geïsoleerde bacterie met die van een isolatie van de *Erwinia*-soort afkomstig van LELLIOTT (nr. R 10) bleek, dat deze bacteriën identiek zijn. Tot dezelfde conclusie kwam HELLMERS (1958), die onze isolatie nr. 254 vergeleek met zijn eigen isolaties en met een isolatie van LELLIOTT. Wij zullen de door HELLMERS gegeven naam overnemen, met dien verstande, dat wij de in Nederland algemeen gebruikte geslachtsnaam alsnog zullen handhaven in navolging van BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology (1957). De naam van de bacterie luidt dan *Erwinia parthenii* var. *dianthicola.*

Bij onze eerste beschrijving van deze bacterie (BAKKER & SCHOLTEN, 1955) gaven wij weliswaar enkele verschillen aan tussen onze isolaties en de door BURKHOLDER (1942) beschreven *Pseudomonas caryophylli,* doch wij werden op een dwaalspoor gebracht door een onduidelijke zweepdraadkleuring, waarbij de peritriche ciliën zich als bipolair voordeden. Dit bracht ons er toe de door ons geïsoleerde bacterie te beschouwen als een wat afwijkende vorm van *P. caryophylli.* Dit is niet juist. De bacterie heeft peritriche ciliën en is identiek met de isolaties van HELLMERS en LELLIOTT.

In 1956 werd door ons werkelijk *P. caryophylli* geïsoleerd uit het ras Harvest Moon. Deze isolatie werd vergeleken met de van HELLMERS ontvangen isolatie nr. 88 en bleek hiermee identiek te zijn.

BESCHRIJVING VAN DE BACTERIËN

Pseudomonas caryophylli is uitvoerig beschreven door BURKHOLDER (1942) en later door HELLMERS (1958), *Erwinia parthenii* var. *dianthicola* door LELLIOTT (1956) en HELLMERS (1958). Wij willen daarom nu volstaan met een beperkte beschrijving van beide bacteriën.

Voor de determinatie is in het algemeen de methodiek gevolgd, beschreven in het „Manual of Methods" van de „Society of American Bacteriologists" (1954). Voor alle reacties werd steeds met verscheidene isolaties gewerkt; alle proeven werden voor elke isolatie steeds in duplo gedaan. Bovendien werden onze isolaties vergeleken resp. met een isolatie van *P. caryophylli* van HELLMERS (nr. 88) en een isolatie van *E. parthenii* var. *dianthicola* van LELLIOTT (nr. R 10).

Pseudonomas caryophylli

De bacterie is staafvormig met ronde uiteinden, dikwijls iets gebogen van vorm. De ciliën zijn polair, soms bipolair. De ciliënkleuring geschiedde volgens de methode van GRAY. De bacterie is Gramnegatief.

Op bouillonagar is de groei slecht; na ongeveer een week bij 28 °C zijn de bacteriën dood. In bouillon is de groei beter. Na één dag bij 28 °C treedt reeds troebeling op. Na enkele dagen ontstaat een dun vlies, waarvan op de tiende dag alleen een ring is overgebleven. Aardappelglucoseagar is een goed medium voor deze bacterie. Na twee dagen wordt de groei zichtbaar van cremekleurige kolonies; na enkele dagen beginnen de kolonies in het centrum bruin te verkleuren. Na één tot twee weken zijn de kolonies donkerbruin met een lichte

rand en met een dun, licht gekleurd laagje over het bruine centrum van de kolonie. Door deze bruinkleuring is de bacterie altijd gemakkelijk te onderscheiden van *Erwinia parthenii* var. *dianthicola*. De bacterie blijft op aardappelglucoseagar ongeveer een maand in leven.

De optimum-temperatuur ligt bij 30-33 °C.

Bouillongelatine wordt zeer langzaam vervloeid: na tien dagen is in de gelatine een kleine holte ontstaan. Dit komt overeen met de waarnemingen van Burkholder (1942); volgens Hellmers (1958) wordt gelatine niet vervloeid.

Nitriet wordt gevormd in nitraatbouillon (na twee dagen aangetoond met reagens van Griesz-Romijn).

Er treedt geen H_2S-vorming op, noch wanneer loodacetaatpapier werd opgehangen boven een bacteriecultuur in bouillon, noch wanneer de bacterie werd geënt op Difco's peptonijzeragar of Difco's loodacetaatagar.

Indol wordt niet gevormd in Difco's bacto-trypton (aangetoond volgens de methode van Ehrlich).

Er heeft geen zetmeelsplitsing plaats na enting op bouillonagar, waaraan 0,2 % zetmeel is toegevoegd (na acht dagen aangetoond met Lugol's jodiumoplossing).

Voor het onderzoek van afbraak van koolhydraten werd steeds 1 % van het betreffende koolhydraat gevoegd bij een basisoplossing van zouten; bovendien werd broomthymolblauw toegevoegd als indicator en een Durhambuisje in de reageerbuis gebracht om eventuele gasvorming aan te tonen. Meestal werden de oplossingen na samenvoegen van de bestanddelen gesteriliseerd in een autoclaaf gedurende $^1/_2$ uur bij 105 °C. Een uitzondering vormden maltose, lactose en saccharose. Om afbraak tijdens het steriliseren te voorkomen werden deze suikers niet in de autoclaaf gesteriliseerd, doch via een ultrafilter direct gebracht in buizen met basisoplossing en broomthymolblauw, die tevoren in de autoclaaf waren gesteriliseerd. Zuurvorming, doch geen gasvorming is aangetoond in buizen met arabinose, glucose, lactose (langzaam), maltose, saccharose en ethanol. In buizen met natriumcitraat wordt de pH hoger.

Lakmoesmelk wordt alkalisch; binnen een week is blauwkleuring duidelijk waarneembaar. Na een week ontstaat een grauwwit neerslag onderin de buis. Na verloop van twee maanden is de melk gepeptoniseerd.

Erwinia parthenii var. *dianthicola*

De bacterie is staafvormig met ronde uiteinden, soms gepaard. De ciliën zijn peritrich (gekleurd werd volgens de methode van Gray). De bacterie is Gramnegatief.

Goede groei op bouillonagar. De vuilwitte kolonies hebben op deze voedingsbodem een rechte tot iets gegolfde rand. Op aardappelglucoseagar is de groei zeer karakteristiek. De kolonies zijn aanvankelijk vuilwit, later worden ze in het centrum licht geelbruin van kleur. De randen zijn na enkele dagen duidelijk gegolfd, na ongeveer vijf dagen sterk geveerd (coralloid). In bouillon goede groei, er ontstaat een sterke troebeling met weinig neerslag en een dun vlies wordt gevormd. Groei in Clara's en Fermi's oplossingen vrij goed, in Cohn's oplossing zwak, in citraatmedium vrij goed. Geen groei in bouillon met 5 % NaCl.

De optimum-temperatuur is 25 °C. Er is echter weinig verschil in groei bij

temperaturen tussen 15 en 30 °C. Maximum-temperatuur ongeveer 35 °C.

Bouillongelatine wordt vervloeid, aanvankelijk komvormig, later langs de hele steek.

Nitriet wordt gevormd uit nitraat. H_2S-vorming kon bij de meeste isolaties van deze bacterie niet worden aangetoond; bij een paar isolaties werd echter wel een zwakke H_2S-vorming waargenomen wanneer loodacetaatpapier gehangen werd boven de cultuur van de bacterie in bouillon.

Bij de meeste isolaties kon in Difco's bacto-trypton indolvorming aangetoond worden volgens de methode van EHRLICH.

De Voges-Proskauer reactie is positief; de methylroodproef is aanvankelijk positief, na ongeveer een week echter negatief.

Zetmeel wordt niet gesplitst.

In basisoplossing met 1 % koolhydraat en broomthymolblauw ontstaat zuur en gas bij galactose, glucose, saccharose, lactose (bij laatstgenoemde suiker langzaam; na ongeveer tien dagen begon de zuurvorming zichtbaar te worden, na twee maanden hadden alle isolaties gas gevormd). Met maltose geringe zuurvorming, doch geen gasvorming na twee maanden. Met natriumacetaat, -tartraat en -citraat wordt het medium alkalischer, na enkele dagen is de blauwkleuring waar te nemen.

Lakmoesmelk wordt aanvankelijk blauw, doch later neemt de zuurvorming de overhand. De lakmoes begint onderin de buis te reduceren en is na ongeveer een week geheel gereduceerd. Coagulatie („soft curd") begint na enkele dagen; boven het coagulaat ontstaat een enkele mm brede, paarse serumzone. Deze serumzone wordt geleidelijk breder naarmate het coagulaat vaster wordt; de kleur van het serum wordt vuilroze. Na twee tot vier weken is een stevig coagulaat ontstaan en beslaat de serumzone ongeveer de helft tot een derde van het medium.

De symptomen

Nadat wij de beschikking hadden gekregen over de beide bacteriesoorten, was het ook mogelijk door middel van inoculatieproeven het verloop van de aantasting en de symptomen op de plant te vergelijken.

Een *Erwinia*-aantasting van jonge planten heeft meestal na korte tijd een sterke groeiremming ten gevolge. De gevormde zijscheuten en bloemstengels blijven zeer kort; vaak worden de internodiën geheel door de bladeren bedekt. De planten krijgen een vale, grijsgroene kleur; de bladeren worden rimpelig met dode punten. Als oudere planten worden aangetast is de groeiremming meestal minder duidelijk en heeft de ziekte dikwijls een meer acuut verloop.

Het meest typerende verschijnsel bij een aantasting door *Pseudomonas* is het splijten van de internodiën, waardoor diepe, overlangse wonden in de stengel ontstaan. De ziekte had in onze proeven steeds een zeer traag verloop en breidde zich niet uit naar de omringende planten. Ook op de bedrijven in Nederland heeft deze ziekte geen schade meer aangericht en in de andere landen van West-Europa waar *Pseudomonas caryophylli* geïmporteerd is heeft deze zich evenmin gehandhaafd.

De bestrijding van *Erwinia*

Een groter probleem vormde de bestrijding van *Erwinia parthenii* var. *dianthicola*. Deze ziekte had op een aantal bedrijven vaste voet gekregen en veroorzaakte belangrijke schade. Teneinde na te gaan op welke wijze een verdere uitbreiding kon worden tegengegaan, werd een gecombineerd onderzoek ingesteld op het Proefstation voor de Bloemisterij te Aalsmeer en op het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek en de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen. Hierbij kwam het volgende naar voren:

Erwinia kan met het stekmes van zieke op gezonde stekken worden overgebracht. De meest effectieve ontsmetting van het mes werd verkregen met 15% lysol. De ziekte kan worden verspreid als zieke en gezonde stekken gezamenlijk in water worden gezet, als er besmet gietwater wordt gebruikt, of als er zieke stekken op het stektablet tussen de gezonde staan. Hieruit blijkt hoe belangrijk het zou zijn, als bij het begin van een nieuwe cultuur de zekerheid kon worden verkregen dat men van volledig gezond plantenmateriaal uitgaat. Dit is ook het doel van de verplichte N.A.K.S.-keuring, waarbij de handel in stek, afkomstig uit kassen waarin vaatziekten zijn geconstateerd, wordt verboden. Door de lange incubatietijd van *Erwinia* is het echter mogelijk, dat geruime tijd zieke stekken worden geplukt van moerplanten, die ogenschijnlijk nog gezond zijn. Waarschijnlijk moet aan deze omstandigheid èn aan het gebruik van besmet gietwater de snelle verbreiding van de ziekte in de eerste jaren van zijn optreden worden toegeschreven. Het toetsen van de stekken voor de teelt van moerplanten (Hellmers, 1955a,b, 1958; Tammen, Baker & Holley, 1956) zou hier uitkomst kunnen brengen, wanneer met een dergelijke methode iedere geïnfecteerde stek kan worden opgespoord. Uitgebreide proeven hebben evenwel aangetoond, dat langs deze weg nooit alle stekken, die met *Erwinia* zijn besmet, kunnen worden gevonden. De verdeling van de bacteriën in de plant is nl. zo onregelmatig, dat ze zelfs bij ernstig aangetaste planten niet uit elk stukje van de stengel kunnen worden geïsoleerd.

Toch worden er sedert 1957 op grote schaal anjerstekken getoetst ten behoeve van de praktijk. Hierbij worden alleen stekken uit goedgekeurde kassen geaccepteerd. Op deze wijze is het mogelijk, dat een infectie van de moerplanten wordt ontdekt vóórdat de symptomen aan de planten zichtbaar worden. Krachtens de bepalingen van de keuringsdienst mogen dan geen stekken van deze moerplanten meer worden verhandeld. De praktische waarde van het toetsen is belangrijk toegenomen sinds de stekken ook op de aanwezigheid van schimmelziekten — speciaal *Phialophora cinerescens* — worden gecontroleerd.

De stand van zaken op de bedrijven

De resultaten van het onderzoek hebben geleid tot adviezen aan de praktijk, waardoor de bedrijfshygiëne nog verder is verbeterd. Zo is men er vrijwel algemeen toe overgegaan de moerplanten te kweken in gesloten tabletten. Op de vermeerderingsbedrijven wordt uitsluitend met wel- of leidingwater gegoten. De stekken worden niet meer gemeenschappelijk op water gezet en het toetsen heeft een grote vlucht genomen. Daarnaast wordt grote aandacht geschonken aan geïmporteerde partijen (in 1955 werd in 40 % van deze zendingen een *Erwinia*-infectie vastgesteld!).

Het aantal besmette bedrijven is dientengevolge de laatste jaren sterk afgenomen. Als deze ontwikkeling zich voortzet, zullen bacterieziekten in anjers in Nederland weldra geen rol van betekenis meer spelen.

Summary

Two species of bacteria can cause a wilt disease of carnations viz. *Pseudomonas caryophylli* Burkh. and *Erwinia parthenii* var. *dianthicola* Hellmers. *P. caryophylli,* which has been found in The Netherlands only occasionally, is not a real danger for the culture of carnations. The *Erwinia* species on the other hand, is more widely distributed and may cause serious damage to carnation plants in all stages of growth.

In a former article (Bakker & Scholten, 1955) it was wrongly concluded that the bacterium found in carnations in The Netherlands since 1951 was a somewhat aberrant form of *P. caryophylli.* Later, the results of inoculation experiments made us doubt the correctness of this conclusion. The carnation variety Durango, which according to Thomas (1954) is completely resistant to *P. caryophylli,* was severely attacked by the bacterium we isolated.

When during the XIVth International Horticultural Congress at Scheveningen in 1955 we had the opportunity to discuss our experiences with research workers from Denmark and England we found that in these countries, too, a second bacterium causing wilt of carnations had been found viz. a species of *Erwinia,* later named by Hellmers (1958) *Pectobacterium parthenii* var. *dianthicola.* Upon closer examination our isolate appeared to be identical with this *Erwinia* species. The flagella are not polar as was stated in our first publication, but peritrichous. An indistinct flagellum staining led us astray at the time. We have adopted the name given by Hellmers on the understanding that we shall maintain for the present the generic name *Erwinia,* this being the one in common use in The Netherlands. The name of the bacterium will thus be *Erwinia parthenii* var. *dianthicola.*

Infection with this species of *Erwinia* causes a stunted growth, especially in young plants, and the plants turn a greenish grey. In plants infected with *P. caryophylli* on the other hand, deep longitudinal cracks arise in the internodes and the wilting process develops rather slowly. In The Netherlands, as well as in the other countries of Western Europe to which it has been introduced, the latter bacterium has not been able to establish itself fully. *E. parthenii* var. *dianthicola,* on the other hand, spreads easily and rapidly and has caused important damage in our country.

To control this disease the method of Hellmers (1955a,b, 1958) for testing the cuttings has been used. Large numbers of mother plants are now propagated from cuttings tested in this way and they are generally grown in closed propagation benches to prevent the spread of infection through the soil. The cuttings are no longer stood together in water because when this is done, infection may pass between the cuttings via the water. Care is also taken that the water used for spraying is not infected.

Application of these measures has resulted in a sharp decrease of the number of infected nurseries in the last few years. If this development continues, it should not be long before the bacterial diseases of carnations no longer play a prominent part in The Netherlands.

Literatuur

Bakker, Martha & G. Scholten, – 1955. Een bacterieverwelkingsziekte in Amerikaanse anjers. T.Pl.-ziekten 61: 7–10.

Burkholder, W. H., – 1942. Three bacterial plant pathogens: Phytomonas caryophylli n.sp., Phytomonas alliicola n.sp., and Phytomonas manihotis (Arthaud-Berthel et Bondar) Viegas. Phytopathology 32: 141–149.

Hellmers, E., – 1955a. Bacterial wilt of carnations. Gardeners Chronicle 137 nr. 3567: 194–195.

Hellmers, E., – 1955b. Bacterial wilt in carnations and its control. Rep. XIVth Int. hort. Congr., Netherlands: 985–995.

Hellmers, E., – 1958. Four wilt diseases of perpetual-flowering carnations in Denmark. Thesis, Copenhagen.

Lelliott, R. A., – 1956. Slow wilt of carnations caused by a species of Erwinia. Pl. Pathology 5: 19–24.

Lelliott, R. A. & J. J. E. Jenkins, – 1956. Slow wilt is attacking carnations. Grower 21 Jan.: 155–157.

Scholten, G., – 1953–1956. Jaarverslag Proefstation Bloemisterij, Aalsmeer. 1953: 17; 1954: 28–29; 1955: 23–25, 85; 1956: 34–39.

Scholten, G., – 1955. Wilting diseases of carnations in the Netherlands. Rep. XIVth Int. hort. Congr., Netherlands: 995–1003.

Society American Bacteriologists, Committee on Bacteriological Technique. - 1954. Manual of Methods for pure culture study of bacteria, Geneva, New York.

Tammen, J., R. R. Baker & W. D. Holley, – 1956. Control of carnation diseases through the cultured-cutting technique. Pl. Dis. Rep., Suppl. 238: 72–76.

Thomas Jr., W. D., – 1954. The reaction of several carnation varieties to bacterial wilt. Phytopathology 44: 713–715.

T.Pl.-ziekten 67 (1961): 303–306

EEN VERGELIJKING TUSSEN VERSCHILLENDE TOETSMETHODEN VOOR HET AARDAPPEL-Y-VIRUS[1]

With a summary: A comparison of different methods for testing potato virus Y

DOOR

J. A. DE BOKX

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

In de literatuur wordt algemeen aangenomen, dat tabak voor het betrouwbaar aantonen van het Y-virus de meest geschikte toetsplant is (Ross, 1960). Uit onderzoek, waarbij een reeks waardplanten voor het Y^N-virus werd onderzocht, bleek dat bepaalde vormen van *Solanum demissum* (COCKERHAM, 1958; KÖHLER, 1953) eveneens zeer goed als toetsplant kunnen worden gebruikt (DE BOKX, 1961). Om eventuele verschillen tussen de toetsplanten te kunnen aantonen, werden in de loop van 1960 enige proeven uitgevoerd, waarbij Y-virusbevattend inoculum op tabak, A6 (kruising van *Solanum demissum* en Aquila) en *Solanum demissum* „Y" werd gebracht.

MATERIAAL EN METHODIEK

Het inoculum, dat achtereenvolgens werd gebruikt, bestond uit sap van aangesneden aardappelknollen van diverse rassen, besmet met verschillende vormen van het Y-virus, uit bladsap van met Y^N-virus geïnoculeerde aardappelplanten van het ras Bintje en uit sap van spruiten van knollen afkomstig van primair met Y^N-virus geïnfecteerde planten van het ras Bintje.

De inoculatie met knolinoculum werd uitgevoerd door aan het apicale einde van de gesproten knol met een gedesinfecteerd mes een kapje van ongeveer $^1/_2$ cm dikte te snijden en vervolgens het snijvlak van de knol onder zachte druk in aanraking te brengen met de toetsbladeren, die van te voren lichtelijk bestrooid waren met carborundumpoeder 400 mesh. De knollen waren afkomstig uit praktijkvelden en hoofdzakelijk met Y^N-virus besmet. Na toetsing werden de knollen in de kast uitgeplant. De uit deze knollen opgegroeide planten werden daarna visueel op aanwezigheid van Y-virus beoordeeld.

Het bladsap-inoculum was afkomstig van de toppen van planten, die op een blad ter halve hoogte van deze planten met Y^N-virus waren geïnoculeerd. Er werd gewerkt met drie series planten, die op een leeftijd van respectievelijk zes, acht en tien weken werden besmet. In elke serie had het rooien plaats respectievelijk 10, 17 en 24 dagen na inoculatie.

Het inoculum van de spruiten werd verkregen door gebruik te maken van de gekneusde massa van Y-virusbevattende spruiten. De gekneusde massa van de spruiten werd met een gedesinfecteerd pincet in aanraking gebracht met de toetsbladeren, die met carborundumpoeder waren bestrooid. Deze spruiten

[1] Aangenomen voor publikatie 6 maart 1961.

waren verkregen van knollen van het ras Bintje, die primair met Y^N-virus besmet waren. De knollen waren afkomstig van planten, die op een leeftijd van 11 weken met Y^N-virus waren geïnoculeerd en vervolgens in twee groepen, respectievelijk negen en veertien dagen na de inoculatie, werden gerooid. Nadat de knollen waren getoetst op de hybride A6 en tabak, werden zij in de kas uitgeplant. De uit deze knollen opgegroeide planten werden visueel op Y-virus beoordeeld. De bewaring en behandeling van de toetsbladeren geschiedde op de gebruikelijke wijze (DE BOKX, 1960).

RESULTATEN

Door het gebruik van knolinoculum konden op de toetsplanten tabak en A6 maar zeer weinig zieke knollen worden achterhaald. De visuele waarneming aan de plantjes, die uit de getoetste knollen waren opgegroeid, gaf in alle onderzochte gevallen meer zieke knollen aan dan de beide toetsplanten. Slechts in één geval was het verschil tussen visuele waarneming en toetsplanten gering. In dit geval waren de knollen afkomstig van planten, waarvan op het oog reeds kon worden vastgesteld dat zij met Y^N-virus waren besmet. De knollen, waarin met behulp van A6 en tabak het Y-virus was aangetoond, waren in beide gevallen dezelfde. Deze knollen werden ook met de visuele beoordeling achterhaald.

Zoals verder uit tabel 1 blijkt, geven A6 en tabak als toetsplanten dezelfde resultaten.

TABEL 1. Aantallen knollen, waarin Y-virus kon worden aangetoond door gebruik van knolinoculum met de toetsplanten tabak en A6, in vergelijking met de visuele waarneming.
Number of tubers, containing virus Y, detected by means of tobacco and A6 using tuber inoculum in comparison with visual observation.

Ras *Variety*	Totaal aantal knollen *Total number of tubers*	Als ziek onderkend door middel van visuele waarneming *Diseased tubers, detected by means of visual observation*	Als ziek onderkend door middel van toetsplanten *Diseased tubers detected by means of test plants*	
			Tabak *Tobacco*	A6
Bintje	21	11	2	2
Bintje	21	12	0	0
Climax	21	14	0	0
Climax	21	20	19	19
Climax	21	14	3	3
Record	21	13	0	0
Sirtema	21	11	2	2

Uit tabel 2 blijkt, dat bij het gebruik van bladsap als inoculum eveneens geen uitgesproken verschil tussen de verschillende toetsplanten kon worden geconstateerd. In de tabel is het totale aantal als ziek onderkende planten weergegeven. Er werden echter niet altijd dezelfde planten door de verschillende toetsplanten als ziek aangeduid. Hoewel het met behulp van A6 achterhaalde aantal met Y-virus besmette planten lager is dan het aantal door SdY en tabak vastgesteld, zijn de resultaten in de reeks niet in alle gevallen slechter dan bij de andere toetsplanten.

TABEL 2. Aantallen primair zieke planten, vastgesteld met de toetsplanten tabak, A6 en SdY, waarbij bladsap van de topbladeren als inoculum werd gebruikt.
Number of primarily diseased plants, detected by means of tobacco, A6 and SdY, using sap of the topleaves as inoculum.

Leeftijd der planten in weken *Age of plant in weeks*	Aantal dagen na inoculatie *Number of days after inoculation*	Toetsplant *Test plant*			Top gestekt *Top rooted*
		Tabak *Tobacco*	A6	SdY	
6	10	0/8	0/8	4/8	8/8
	17	4/8	3/8	5/8	5/5
	24	6/8	4/8	6/8	6/7
8	10	1/8	2/8	1/8	7/8
	17	3/8	2/8	2/8	3/3
	24	8/8	6/8	3/8	5/5
10	10	0/8	0/8	3/8	1/6
	17	1/8	0/8	0/8	1/2
	24	1/8	0/8	0/8	–

Teller = aantal planten, waarin Y-virus kon worden aangetoond
Noemer = totale aantal planten
Numerator = number of diseased plants detected by testing
Denominator = total number of plants

Om de aanwezigheid van virus definitief te kunnen vaststellen, werden de toppen, waarvan het blad voor het bladsap was verkregen, gestekt. Uit de gegevens hierover blijkt, dat in de meeste gevallen op deze wijze het grootste aantal zieke toppen kan worden aangetoond. Uit de gegevens van tabel 2 kan verder worden geconcludeerd, dat „top"-inoculum geen betrouwbare resultaten oplevert ten aanzien van het al of niet werkelijk aanwezig zijn van het virus.

Uit tabel 3 blijkt, dat wanneer gekneusde spruiten van Y^N-virusbevattende knollen als inoculum worden gebruikt, de aantallen door de toetsplant A6 aangeduide besmette knollen volkomen overeenstemmen met de visuele waarneming van de uit deze knollen opgegroeide planten in de kas. Met tabak als toetsplant werden alleen bij de elf weken oude, negen dagen na inoculatie gerooide knollen, twee knollen minder gevonden dan bij de toetsing op A6. Bij de knollen gerooid 14 dagen na inoculatie waren de aantallen als ziek aan-

TABEL 3. Aantallen knollen, waarin Y^n-virus kon worden vastgesteld door middel van de toetsplanten tabak en A6 bij gebruik van spruiten als inoculum, in vergelijking met de visuele waarneming in de kas.
Number of tubers primarily infected with virus Y^n, detected by means of tobacco and A6, using sprouts as inoculum, in comparison with visual observation in the glasshouse.

Leeftijd der planten in weken *Age of plant in weeks*	Aantal dagen na inoculatie *Number of days after inoculation*	Totale aantal knollen *Total number of tubers*	Als ziek onderkend door middel van: *Number of diseased tubers, detected by:*		
			Visuele waarneming *Visual observation*	Toetsplanten *Test plants*	
				Tabak *Tobacco*	A6
11	9	10	6	4	6
	14	10	5	5	5

geduide knollen voor beide toetsplanten gelijk. In alle gevallen konden door de drie toetsmethoden steeds dezelfde knollen als besmet met Y-virus worden aangetoond. Volgens de waarnemingen uit tabel 3 geeft tabak als toetsplant voor het Y^N-virus minder goede resultaten dan A6; worden echter alle gegevens nagegaan, dan kunnen geen betrouwbare verschillen tussen de toetsplanten worden vastgesteld.

Samenvatting en conclusie

In de literatuur wordt algemeen aangenomen, dat tabak ten opzichte van het aardappel-Y-virus de meest geschikte toetsplant is. In 1960 werden in verschillende proeven de toetsplanten tabak, A6 (kruising van *Solanum demissum* en het aardappelras Aquila) en *Solanum demissum* „Y" veelvoudig naast elkaar gebruikt. Als Y-virusbevattend inoculum werden naast bladsap ook aangesneden knollen en gekneusde spruiten aangewend. Het bleek, dat de aantallen zieke individuen, die konden worden aangetoond bij gebruik van de verschillende toetsplanten, vrijwel gelijk waren.

Door de verscheidenheid van inoculum mag worden aangenomen, dat een grote variatie heeft bestaan in virusconcentratie. Desalniettemin hebben genoemde toetsplanten gelijk gereageerd. Als algemene conclusie mag daarom worden aangenomen, dat de gebruikte toetsplanten als gelijkwaardig kunnen worden beschouwd.

Summary

In the literature it is reported, that tobacco is the best test plant for detecting potato virus Y. A large number of tests were performed with tobacco, the *Solanum demissum* hybrid A6 and *Solanum demissum* "Y" to compare them as test plants for this virus. Three sources of inoculum were used viz. sap from leaves, sections of tubers and pressed sprouts and it may be assumed, that they differed appreciably with regard to virus concentrations.

The three hosts proved equally efficient in detecting infection irrespective of the type of inoculum used and it must therefore be concluded, that tobacco, A6 and SdY are of equal value as test plants for virus Y.

Literatuur

Bokx, J. A. de, – 1960. Het onderkennen van het „nieuwe" Y-virus (Tabak-Rippenbräune Virus) in aardappel door middel van de bladtoets. I.P.O.-Onderzoekverslag no. 6.

Bokx, J. A. de, – 1961. Waardplanten van het aardappel-Y^n-virus. T. Pl.-ziekten 67: 273–277.

Cockerham, G., – 1958. Experimental breeding in relation to virus resistance. Proc. 3rd Conf. Pot. Virus Dis., Wageningen – Lisse, 1957: 199–203.

Köhler, E., – 1953. Der Solanum demissum – Bastard „A6" als Testpflanze verschiedener Mosaikviren. Züchter 23: 173–174.

Ross, H., – 1960. Die Praxis der Züchtung auf Infektionsresistenz und extremer Resistenz (Immunität) gegen das Y-Virus der Kartoffel. Europ. Pot. J. 3: 296–306.

T. Pl.-ziekten 67 (1961): 307–314

THE TRANSMISSION OF RATTLE VIRUS BY *TRICHODORUS PACHYDERMUS*[1]

Met een samenvatting:
De overdracht van ratelvirus door Trichodorus pachydermus

BY

H. H. Sol and J. W. Seinhorst
Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

Hewitt, Raski and Goheen (1958) were the first to demonstrate the transmission of a soil-borne virus by nematodes. They were able to infect healthy grape vines with the fanleaf virus by placing in the soil near their roots the nematode *Xiphinema index* Thorne & Allen, taken from soil around the roots of diseased grape vines. *Xiphinema diversicaudatum* (Micoletzky) was later found to transmit *Arabis* mosaic virus (Jha & Posnette, 1959, 1961; Harrison & Cadman, 1959). The viruses transmitted by these *Xiphinema* species are isometric in shape.

Rod-shaped soil-borne viruses may also be transmitted by nematodes. Sol, van Heuven & Seinhorst (1960) were able to transmit rattle virus and *Atropa belladonna* mosaic virus to tobacco by growing it in soil to which had been added nematodes from soils infected with these viruses. *Hoplolaimus uniformis* Thorne and *Hemicycliophora* spec., isolated from infective bulk suspensions of nematodes, did not transmit the virus. Further experiments revealed that of four dorylaimoid species investigated, one, *Trichodorus pachydermus* Seinhorst, readily transmitted rattle virus.

Materials and methods

The nematodes used in the transmission experiments were extracted from sandy soil collected at Lisse (four dorylaimoid species including *Trichodorus pachydermus* of experiments A to D, listed in table 1) and at Gieterveen (experiment E in table 1). The Lisse field was known to be infected with rattle virus from observations by van Slogteren (1958), which were corroborated in 1960 by the spinach test. For this test spinach is grown in the soil to be investigated. About five weeks after sowing, sap from the roots is pressed out and rubbed on leaves of healthy White Burley tobacco plants. The presence of rattle virus in the spinach roots, and therefore in the soil to be investigated, is revealed by the appearance of the necrotic ring and line patterns characteristic of rattle. In the field at Gieterveen potatoes suffered from stem-mottle and the presence of rattle virus could again be demonstrated by the spinach test.

Nematodes were extracted from soil by elutriation and sieving (Seinhorst, 1956). Not more than three to four hours after the elutriation specimens of the eelworm species to be investigated were picked from the extracted nema-

[1] Accepted for publication 15 June, 1961.

TABLE 1. The transmission of rattle virus by *Trichodorus pachydermus*.
De overdracht van ratelvirus door Trichodorus pachydermus.

Experiment *Proef*	Number of nematodes per bag *Aantal aaltjes per zakje*	Amount of soil per bag in g *Hoeveelheid grond per zakje in g*	Number of plants *Aantal planten*	Number of infected plants *Aantal geïnfecteerde planten*
A	50	125	5	2
	0	125	4	0
B	100	250	5	5
	0	250	5	0
C	10	50	7	4
	0	50	2	0
D	16	50	5	5
	8	50	10	10
	4	50	10	7
	2	50	10	7
	1	50	10	4
	0	50	5	0
E	8	50	7	7
	0	50	5	0
Total *Totaal*	inoculated soil *geïnoculeerde grond*		69	51
	controls *controles*		21	0

tode mixture and, before being transferred to the soil to be inoculated, placed in drops of distilled water on a watch glass. The soil used in the experiments was autoclaved and, in order to remove water-soluble substances which might inactivate the nematodes, hot water was sucked through the soil on a Buchner funnel. From 50 to 250 g of this soil was placed in a plastic bag of suitable size. The nematodes were transferred to it with a little water and not more than a day afterwards one seedling of *Nicotiana tabacum* var. White Burley was planted in each bag. In the tests to investigate which nematode species transmits rattle, at least thirty specimens of one species were placed in a bag.

Transmission of virus was sometimes revealed by symptoms in the leaves of the test plants but more often had to be determined by testing for the presence of virus in their roots. Presence or absence of virus in the roots of control plants and of plants which showed no leaf symptoms after having grown for two to three weeks in soil inoculated with nematodes was investigated as described for the spinach test.

RESULTS

Of the four dorylaimoid species tested, rattle virus was transmitted only by *Trichodorus pachydermus*. Experiment D of table 1 shows that even one specimen of this species can infect a tobacco plant. That not all specimens added singly to the bags transmitted virus may have been due to the fact that not all

of them carried virus, or possibly to inactivity or death of some of the specimens. Generally no more than about two out of every three specimens added to soil could be extracted from it a week later, indicating that approximately one in three of the nematodes became inactive after transfer.

Geographical distribution of rattle virus and of *Trichodorus pachydermus*

T. pachydermus occurs quite commonly on sandy soils in the Netherlands wether arable land, pasture, woodland, or soil which is not under cultivation. It seems to be rare in clay soils, as is the soil-borne rattle virus. The distribution of the virus may therefore very well be limited to areas, where *T. pachydermus* occurs. This must still be corroborated by further research.

Samenvatting

De nematode-soort *Trichodorus pachydermus* Seinhorst kan ratelvirus overbrengen naar gezonde White Burley tabaksplanten. Eén aaltje, geïsoleerd uit met ratelvirus besmette grond, is zelfs in staat een tabaksplant met het virus te infecteren.

Evenals ratelvirus komt deze nematode-soort vooral voor in lichtere grondsoorten. In kleigrond worden beide zelden aangetroffen. Het is mogelijk, dat de verspreiding van het virus beperkt is tot gebieden waar *T. pachydermus* voorkomt. Dit moet nog nader worden onderzocht.

Acknowledgements

The authors are greatly indebted to Ir. D. H. M. van Slogteren, Laboratorium voor Bloembollenonderzoek, Lisse and Dr. Ir. E. G. Kloosterman, N.A.K., Wildervank for their help in locating infected fields and collecting soil samples.

References

Harrison, B. D. & C. H. Cadman, – 1959. Role of a dagger nematode (Xiphinema sp.) in outbreaks of plant diseases caused by Arabis mosaic virus. Nature 184: 1624–1626.

Hewitt, W. B., D. J. Raski & A. C. Goheen, – 1958. Nematode vector of soil-borne fanleaf virus. Phytopathology 48: 586–595.

Jha, A. & A. F. Posnette, – 1959. Transmission of a virus to strawberry plants by a nematode (Xiphinema sp.). Nature 184: 962–963.

Jha, A. & A. F. Posnette, – 1961. Transmission of Arabis mosaic virus by the nematode Xiphinema diversicaudatum (Micol.). Virology 13: 1–12.

Seinhorst, J. W., – 1956. The quantitative extraction of nematodes from soil. Nematologica 1: 249–268.

Slogteren, D. H. M. van, – 1958. Ratelvirus als oorzaak van ziekten in bloembolgewassen en de mogelijkheden de infectie door middel van grondontsmetting te bestrijden. T.Pl.-ziekten 64: 452–462.

Sol, H. H., J. C. van Heuven & J. W. Seinhorst, – 1960. Transmission of rattle virus and Atropa belladonna mosaic virus by nematodes. T.Pl.-ziekten 66: 228–231.

T.Pl.-ziekten 67 (1961): 310–311

KORTE MEDEDELING

VOETROT BIJ PLANTEN EN STEKKEN VAN *PELARGONIUM*[1]

With a summary: Basal stem rot of plants and cuttings of Pelargonium

DOOR

W. P. DE LEEUW

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

Reeds gedurende lange tijd kent men in het bloemisterijcentrum Lent en omgeving het afsterven van planten en stekken van het gebruikelijke handelssortiment van *Pelargonium*. De aantastingen kunnen zodanig hoge percentages bereiken, dat onbewortelde stekken alle wegvallen, terwijl ook bij de bewortelde stekken, planten en zelfs nog bij de moerplanten aanzienlijke uitval kan optreden. Informatie bij de Rijkstuinbouwvoorlichtingsdienst en bij de kwekers gaf de indruk dat vooral na 1950 zeer veel sterfte is opgetreden. De Lentse kwekers hebben dit verschijnsel de naam van „de ziekte" gegeven en men beschouwt het als de ernstigste bedreiging van de cultuur.

In het najaar van 1958 werd met een onderzoek naar de oorzaak en bestrijding van deze ziekte begonnen. Uit de proeven van de afgelopen jaren, die op praktijkschaal werden uitgevoerd, is thans gebleken dat de ziekteverschijnselen door cultuurmaatregelen kunnen worden tegengegaan en de verliezen kunnen worden teruggebracht tot enkele procenten; dit bleek o.a. op een viertal bedrijven.

Een goede wortelvorming is van veel belang voor de jonge stekken. Bijna steeds ziet men dat slechte beworteling en afsterven samengaan. Dit geldt ook voor planten die op latere leeftijd afsterven (b.v. na overwintering). Er werd daarom gestreefd naar het verkrijgen van een snelle en goede beworteling door het kweken van gezonde moerplanten, het snijden van krachtige stekken, het gebruik van groeistoffen (0,1% α-nafthylazijnzuur op kool) en een luchtig, vochthoudend stekmedium (2 delen lichte kleigrond-teeltlaag, 1 deel turfmolm en 1 deel niet te grof zand) en het oppotten in een niet te zware grond in „gewaterde" potten.

Pelargoniums zijn succulenten die overmatig vocht zeer slecht kunnen verdragen. Allerlei vochtminnende schimmels, zoals *Botrytis cinerea* Fr., *Pythium* spp., *Cylindrocarpon radicicola* Wr. en *Fusarium* spp. kunnen de verschillende kweekstadia van de planten ernstig schaden. Het gieten dient daarom steeds met mate te gebeuren en gebruik van glas tegen overmatige regen is gewenst. Ook moerplanten dienen zoveel mogelijk met glas beschermd te worden en geplant te worden op percelen waar geen wateroverlast mogelijk is. De bewortelde stekplanten moeten vorstvrij overwinteren. *Pelargonium* is vooral in deze periode uitermate gevoelig voor *Botrytis cinerea*. De aantasting wordt tegengegaan door zeer spaarzaam te gieten, hetgeen dit succulente gewas goed kan verdragen.

Pelargonium is echter ook gevoelig voor zouten en relatief lage concentra-

[1] Aangenomen voor publikatie 12 mei 1961.

ties worden onder deze omstandigheden reeds schadelijk. Bij spaarzaam gieten is het mogelijk dat de zoutconcentratie verhoogd wordt door stijgend grondwater. Door de intensivering van de bedrijven en door de teelt van gewassen waarbij veel stalmest en kunstmest worden gebruikt en waarbij de bakken de meeste tijd onder glas liggen, b.v. bij *Cyclamen,* kan deze verzouting een ernstig gevaar worden. Dit probleem kan worden opgelost door drainages en uitspoeling van de bakken. Bovendien voorkomt drainage tijdelijke wateroverlast op de bedrijven.

Deze korte mededeling zal te zijner tijd door een uitvoeriger publikatie worden gevolgd.

Summary

In the *Pelargonium* region of Lent in the Netherlands heavy losses of cuttings and plants are due to a basal stem rot. These losses can be prevented by improved cultural methods. Cuttings are to be rooted after treatment with α -naphthaleneacetic (NAA) 0,1% in powdered charcoal in light soil. Watering of these succulent plants must be limited during the whole growing period. However, for these plants which are sensitive to salt, limited water supply may lead to excessive salt concentrations due to water ascending from the subsoil. This problem and the problem of temporary water annoyance can be solved by draining and washing out of the soil.

G. Fröhlich, „Gallmücken – Schädlinge unserer Kulturpflanzen." Die neue Brehm-Bücherei, Heft 253, 80 blz., 44 afb. A. Ziemsen Verlag – Wittenberg Lutherstadt, 1960. Prijs D.M. 4.50.

Voor degene, die zich nader wil oriënteren over galmuggen van cultuurgewassen zonder dat hij er een diepgaande studie van wil maken, vormt dit vlot geschreven werkje een waardevol hulpmiddel. Het is eenvoudig van opzet; de kartonnen band is voorzien van een omslag, waarop een fraaie, toepasselijke tekening van Renate Herschel staat afgebeeld.

Na het doorlezen van de negen hoofdstukken komt men tot de conclusie, dat uit goede en betrouwbare bronnen is geput. De illustraties zijn duidelijk en komen op het mooie papier goed tot hun recht. Men kan er galmuggen mee herkennen en uit de tekst krijgt men een goede indruk van hun levensgewoonten en de praktische betekenis hiervan.

Enkele kritische opmerkingen dienen echter te worden gemaakt. Bij de bespreking van de bij de larven voorkomende borstgraat of spatula sternalis op blz. 18 wordt niet vermeld, dat dit orgaan niet bij alle soorten voorkomt. Bij het geslacht *Lestodiplosis* bij voorbeeld ontbreekt de spatula geheel. Op blz. 19 staat: „Frisch ausgebildete Puppen sind elfenbeinfarbig". Dit gaat voor de vele soorten met roodachtig gekleurde larven zeker niet op. Hier heeft de pas gevormde pop duidelijk de kleur van het laatste larvestadium (*Haplodiplosis equestris* Wagner en vele andere). Op blz. 22 staat: „schon durch mässige Wind oder Regen werden sie (de volwassen muggen) verweht und vernichtet." Ik heb zelfs bij harde wind nog galmuggen eieren op rietgras zien leggen, terwijl de meeste soorten zich bij regenachtig weer in allerlei schuilhoeken plegen terug te trekken. Op blz. 26 bovenaan had bij de inquilinisch levende soorten zeker in de eerste plaats het geslacht *Clinodiplosis* moeten worden genoemd. De naam *Mikiola fagi* op blz. 63 is door een drukfout veranderd in *Makiola fagi*. Bij het op blz. 70 afgebeelde „Schlämmgerät für Bodenproben" ontbreekt helaas een nadere toelichting inzake de werking van dit apparaat. Op blz. 72 worden enige depot-methoden gedemonstreerd. Mitscherlich-potten, half ingegraven en met een glazen trechter afgedekt, lijken mij minder geschikt voor een betrouwbare vluchtregistratie. In de daaronder afgebeelde houten vangbak met los deksel zullen de temperatuurafwijkingen ten opzichte van de natuurlijke omstandigheden minder groot zijn. De methodiek om galmuggen uit plantegallen op te kweken, zoals dit op blz. 76 en 77 wordt omschreven, is vrij omslachtig. De schrijver is kennelijk niet op de hoogte geweest van de eenvoudige manier, waarop Barnes dit deed en die door hem in zijn eerste deel over „Gall midges of economic importance" werd uiteengezet. Barnes gebruikte nl. lampeglazen met vochtige turfmolm gevuld en afgedekt door een met kaasdoek beklede ijzeren ring. Als insluitmiddelen hadden naast Canadabalsem zeker nog Venetiaanse terpentijn en Berlese genoemd moeten worden. Teneinde de larven voor microscopisch onderzoek zo doorzichtig mogelijk te maken, beveelt de auteur aan om ze in kaliloog te macereren of te koken. Dit proces gaat echter veiliger en sneller met behulp van melkzuur. Tenslotte, wanneer hij schrijft: „auch die Larven können in Kanadabalsem eingebettet werden, was jedoch für eine spätere Bestimmung nicht besonders zweckmässig ist", dan slaat hij de plank volkomen mis. De ingewijde kan zeer zeker aan de hand van goed vervaardigde Canadabalsem-preparaten na jaren alle kenmerken, noodzakelijk voor een juiste identificatie, terugvinden.

Deze kritiek verandert m.i. echter niets aan de waarde van het werk. Het bewijst slechts hoe moeilijk het is om in een slechts 80 pagina's tellend boekje over galmuggen aan een zekere generalisatie te ontkomen. Wellicht kan ze van waarde zijn voor een eventuele herdruk.

W. C. Nijveldt